

速冻猕猴桃生产线中耐高渗酵母的分离鉴定

牛 晨, 岳田利*, 袁亚宏, 邱 月

(西北农林科技大学食品科学与工程学院, 杨凌 712100)

摘 要: **目的** 旨在明确污染速冻猕猴桃产品加工环节中主要的高渗酵母种类, 并且研究污染菌种的耐渗特性, 从而在加工中能够预防性地识别和控制高渗酵母污染。**方法** 对酵母基因组 5.8S rDNA-ITS 区或 26S rDNA 的 D1/D2 区两个保守区域进行扩增和测序, 确定分离筛选的高渗酵母的种属信息和分布。测定部分菌株在 2%、50%、60%(m:V)葡萄糖浓度下的 OD₆₀₀, 确定耐糖特性。同时, 测定部分菌株在 2%和 50%(m:V)糖浓度下的产气量。**结果** 在速冻猕猴桃加工环境中共分离筛选到 33 株高渗酵母, 分属于 10 个酵母种。其中, *Hanseniaspora uvarum*、*Hanseniaspora opuntiae*、*Candida intermedia* 和 *Candida tropicalis* 是发生频次高的耐高渗酵母种。*Lodderomyces elongisporus* 和 *Debaryomyces hansenii* 耐渗性强, 能够耐受 60%(m:V)葡萄糖; *Hanseniaspora opuntiae* 和 *Metschnikowia pulcherrima* 在高糖培养基中产气量大。**结论** 速冻猕猴桃加工车间中分离到潜在污染性的耐高渗酵母, 尤其是车间空气中存在多种耐高渗酵母, 因此需要加强加工过程中的卫生管理, 增加预防性的杀菌措施, 保证速冻猕猴桃加工过程的质量安全。

关键词: 高渗酵母; 猕猴桃; 耐糖性; 产气性

Isolation and identification of osmotolerant yeasts from quick-frozen kiwi fruit processing

NIU Chen, YUE Tian-Li*, YUAN Ya-Hong, QIU Yue

(College of Food Science and Engineering, Northwest A&F University, Yangling 712100, China)

ABSTRACT: Objective To identify osmotolerant yeasts exist in quick-frozen kiwi fruit processing procedures, and to characterize the glucose tolerance and gas production of selected strains which potentially compromise product safety and security. **Methods** Amplification and sequencing of the yeast 5.8S rDNA-ITS region or D1/D2 region of 26S rDNA were carried out to determine the identity and distribution of the isolated strains. The OD₆₀₀ were recorded under 2%, 50% and 60% (m:V) glucose concentration to measure osmotic tolerance of selected strains. Meanwhile, the gas production of selected strains under 2% and 50% glucose were also assayed. **Results** A total of 33 isolates belonging to 10 genera were identified: *Hanseniaspora uvarum*, *Hanseniaspora opuntiae*, *Candida intermedia*, and *Candida tropicalis* were repeatedly occurring throughout the processing. *Lodderomyces elongisporus* and *Debaryomyces hansenii* could tolerate 60% (m:V) glucose, and *Hanseniaspora opuntiae* and *Metschnikowia pulcherrima* produced a large amount of gas. **Conclusion** Osmotolerant yeasts were isolated from the workshop of quick-frozen kiwi processing, particularly the air around the workshop contained various species. To assure the processing safety and security of quick-frozen

基金项目: “十二五”国家科技支撑计划资助项目(2012BAD31B01)

Fund: Supported by National Science & Technology Support Program During the “12th Five-Year”(2012BAD31B01)

*通讯作者: 岳田利, 教授, 博士生导师, 主要研究方向为食品生物技术及食品安全控制研究。E-mail: yuetl@nwsuaf.edu.cn

*Corresponding author: YUE Tian-Li, College of Food Science and Engineering, Northwest A & F University, 28 Xinong Road, Yangling 712100, China. E-mail: yuetl@nwsuaf.edu.cn

kiwi fruit, the company should intensify sanitary management and implement preventive disinfection procedures.

KEY WORDS: osmotolerant yeasts; kiwi fruit; sugar tolerance; gas production

1 引言

耐高渗酵母是能够在较高的糖或盐等渗透压物质浓度下生长的一类酵母。特殊的, 一般定义能够在 50%(m:V)以上的葡萄糖浓度下生长的酵母为耐高渗酵母或耐高糖酵母^[1]。耐高渗酵母天然存在于水果的生长环境中, 随着原料进入贮藏及加工环节^[2,3]。存在于食品中的耐高渗酵母在生长时能够产气, 引起食品涨袋、涨听, 包装破裂甚至爆炸, 并且引起食品的腐败变质, 降低食品的营养价值和食用价值^[4-9]。对于食品企业来说, 耐高渗酵母引起的食品污染事件会引起巨大经济损失和影响品牌形象。

我国是猕猴桃种植大国, 陕西省的猕猴桃产量在 2012 年就超过了全国的 50%^[10], 目前, 陕西省猕猴桃加工产品主要是速冻猕猴桃、猕猴桃果干及猕猴桃汁。本研究首次分离鉴定了速冻猕猴桃加工中污染的耐高渗酵母, 确定其种类、分布和特性, 有助于预防污染并实施污染的早期控制, 减少加工企业的经济损失。

2 材料与方法

2.1 材料

宝鸡某速冻猕猴桃加工厂车间采集加工环节及环境样品。在速冻猕猴桃加工车间, 采集加工生产线上去皮工段、切片工段、消毒工段、清洗工段和速冻工段的加工猕猴桃样品、猕猴桃皮各 0.5 kg, 装入无菌自封袋; 清洗用水和清洗后水采集 500 mL 于无菌三角瓶; 空气样品采用空气沉降法, 在车间各点将含 0.05%(m:V)氯霉素的 YPD 培养基平板开盖 5 min, 后合盖于 28 °C 培养 48~72 h^[11]。所有样品 24 h 内带回实验室进行菌种分离。

2.2 培养基

YPD 配培养基: 葡萄糖 20 g/L, 酵母浸粉 10 g/L, 蛋白胨 20 g/L, 琼脂 20 g/L; 高糖 YPD 培养基: 葡萄糖 50 g/L(或 60 g/L), 酵母浸粉 10 g/L, 蛋白胨 20 g/L, 琼脂 20 g/L, 即为 50%(m:V)或 60%(m:V)葡萄糖 YPD

培养基。

2.3 主要仪器

HC-3018R 高速冷冻离心机(安徽中科中佳科学仪器有限公司); ALD1244 PCR 扩增仪(BIO-RAD DNA Engine); DL-CJ-2NDI 超净工作台(北京东联哈尔有限公司); NRY-2102C 全温摇床(上海南荣实验室设备有限公司); YQS-LS-50A 立式压力蒸汽灭菌锅(上海博迅实业有限公司); BIO-RADiMarkMicroplate Reader 酶标仪(美国伯乐公司)。

2.4 方法

2.4.1 酵母分离

称取 10 g 猕猴桃或猕猴桃皮固体样品, 加入含 90 mL 无菌生理盐水的三角瓶中振荡 30 min, 该样品为 10 倍稀释。依次 10 倍梯度稀释并涂布于含 0.05%(m:V)氯霉素的 YPD 平板, 于 28 °C 培养 48~72 h。在有菌落的最高稀释倍数的平板上挑取菌落, 以分离出占优势的菌种^[12]。液体样品以 0.45 μm 滤膜过滤, 滤膜也以生理盐水浸泡振荡后稀释涂布后挑取酵母菌落。将分离到的酵母菌于 YPD 平板中重复划线 2~3 次, 挑取单菌落分别保存于 YPD 斜面于 4 °C 或于 30%甘油 YPD 培养基中 -40 °C 保存。

2.4.2 耐高渗酵母筛选

将酵母划线接种于 50%(m:V)和 60%(m:V)葡萄糖 YPD 平板上并 28 °C 培养 7 d, 在 50%浓度下生长为阳性的菌株鉴定为耐高渗酵母^[1,13]。

2.4.3 分子鉴定

以 E.Z.N.A.TM Yeast DNA Kit 提取酵母菌基因组 DNA。对基因组 5.8S rDNA-ITS 区 ITS1 与 ITS2 进行扩增, 合成通用引物 ITS1(5'-TCCGTAGGTGAACC TGCGG-3')与 ITS4(5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC -3')^[14], PCR 体系 50 μL。采用 PCR 程序: 预变性温度 94 °C, 5 min; 变性温度 94 °C, 1 min; 退火温度 52 °C, 1 min; 延伸温度 72 °C, 1 min, 35 个循环; 延伸温度 72 °C, 5 min。PCR 产物送华大基因进行纯化和测序。对于测序结果显示杂合的菌株, 以引物 NL-1 (5'-GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAG) 和 NL-4 (5'-

GGTCCGTGTTTCAAGACGG)扩增其 26S rDNA D1/D2 区域, 其 PCR 程序为: 变性温度 94 ℃, 1 min, 退火温度 52 ℃, 2 min, 延伸温度 72 ℃, 2 min, 36 个循环^[15]。将 PCR 产物送华大基因进行纯化和测序。测序序列利用 Genbank 数据库中 BLAST(The Basic Local Alignment Search Tool)^[16]比对, 确定菌株种属地位, 并提交序列于 Genbank 数据库中, 序列号见表 1。

表 1 耐高渗酵母分离菌株信息
Table 1 The strain information on isolated osmotolerant yeasts

菌株编号	样品	种属鉴定	匹配率	序列号
B-NC-12-F01	果皮	<i>Hanseniaspora uvarum</i>	99%	KJ794642.1
B-NC-12-F02	果皮	<i>Clavispora lusitaniae</i>	99%	KF728806
B-NC-12-F03	果皮	<i>Candida intermedia</i>	99%	KF728807
B-NC-12-F04	去皮果	<i>Hanseniaspora uvarum</i>	99%	KF728808
B-NC-12-F05	果片	<i>Hanseniaspora opuntiae</i>	100%	KJ794646.1
B-NC-12-F06	果片	<i>Hanseniaspora opuntiae</i>	99%	KF728809
B-NC-12-F07	果片	<i>Candida quercitrusa</i>	99%	KF728810
B-NC-12-F08	果片	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	99%	KJ794649.1
B-NC-12-F09	果片	<i>Candida tropicalis</i>	99%	KJ794650.1
B-NC-12-F10	果片	<i>Hanseniaspora uvarum</i>	99%	KJ794651.1
B-NC-12-F11	水	<i>Hanseniaspora uvarum</i>	99%	KJ794652.1
B-NC-12-F12	水	<i>Candida intermedia</i>	99%	KF728811
B-NC-12-F13	水	<i>Hanseniaspora uvarum</i>	99%	KJ794654.1
B-NC-12-F14	空气	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	99%	KF728812
B-NC-12-F15	空气	<i>Lodderomyces elongisporus</i>	99%	KF728813
B-NC-12-F16	空气	<i>Candida intermedia</i>	99%	KF728814
B-NC-12-F17	空气	<i>Candida tropicalis</i>	99%	KF728815
B-NC-12-F18	空气	<i>Hanseniaspora uvarum</i>	100%	KJ794659.1
B-NC-12-F19	空气	<i>Candida tropicalis</i>	99%	KJ794660.1
B-NC-12-F20	空气	<i>Hanseniaspora opuntiae</i>	99%	KJ794661.1
B-NC-12-F21	空气	<i>Candida tropicalis</i>	99%	KJ794662.1
B-NC-12-F22	空气	<i>Candida intermedia</i>	98%	KF728816
B-NC-12-F23	空气	<i>Rhodotorulamucilaqinosa</i>	99%	KF728817
B-NC-12-F24	空气	<i>Candida tropicalis</i>	99%	KJ794665.1
B-NC-12-F25	空气	<i>Hanseniaspora uvarum</i>	99%	KF728818
B-NC-12-F26	空气	<i>Debaryomyces hansenii</i>	99%	KF728819
B-NC-12-F27	空气	<i>Candida tropicalis</i>	99%	KF728820
B-NC-12-F28	空气	<i>Debaryomyces hansenii</i>	99%	KF728821
B-NC-12-F29	空气	<i>Candida intermedia</i>	99%	KF728822
B-NC-12-F30	空气	<i>Hanseniaspora opuntiae</i>	100%	KJ794671.1
B-NC-12-F31	空气	<i>Hanseniaspora uvarum</i>	100%	KF728823
B-NC-12-F32	空气	<i>Hanseniaspora uvarum</i>	99%	KJ794673.1
B-NC-12-F33	空气	<i>Candida intermedia</i>	97%	KF728824

2.4.4 耐糖性试验

对于在 60%葡萄糖 YPD 固体培养基上生长为阳性的菌株, 分别添加 200 μ L 已灭菌的 2%、50%、60%(m:V)葡萄糖 YPD 培养基于 96 孔板, 血球计数板计数后接种 1×10^4 cells 酵母细胞, 28 $^{\circ}$ C 培养 168 h 每天测定 OD₆₀₀, 记录生长状况。

2.4.5 产气性试验

对于能够耐受 60%的菌株进行产气性试验。计数后, 接种 1×10^2 个酵母细胞于分别装 5 mL 2%和 50%葡萄糖的 YPD 培养基的 10 mL 麦卡特尼瓶 (McCartney)中, 并以橡胶塞封口, 50 mL 注射器刺穿橡胶塞深入至麦卡特尼瓶内的液体培养基中, 形成密闭装置^[17]。28 $^{\circ}$ C 培养 7 d, 读取注射器上的气体体积读数。

2.5 数据统计与分析

利用 Excel 2007 对试验的数据进行处理。不同菌株产气量使用 SPSS 18.0.0 软件的单因素(ANOVA)中的 Duncan 选项, $P<0.05$ 即为显著。

3 结果与分析

3.1 高渗酵母的分离与鉴定

经过菌种分离及高糖培养基筛选, 共分离到耐

高渗酵母 33 株, 菌种鉴定信息见表 1。其中, 分离到的频次较多的菌种有: *Hanseniaspora uvarum* 9 株, *Hanseniaspora opuntiae* 4 株, *Candida intermedia* 6 株, *Candida tropicalis* 6 株。如图 1 所示, 这 4 种酵母的分布基本贯穿了整个加工环节, 来源于猕猴桃果实, 随着加工环节而传播到加工车间的环境中, 是与猕猴桃关系最密切的高渗酵母种, 也是速冻猕猴桃加工中分布占优势的污染酵母。不仅如此, 加工车间的环境中还存在着其他多种耐高渗酵母, 分布在不同的环节中。其他酵母种的分布尽管在环节的数量上并不占优势, 但是仍存在污染风险。例如, *Rhodotorula mucilaginosa* 和 *Metschnikowia pulcherrima* 的菌落呈粉红色, 其附着在猕猴桃片表面生长会直接影响猕猴桃的感官品质。

3.2 耐糖性曲线

如图 2~4 所示, 不同酵母种在不同葡萄糖浓度下生长情况有很大差异。在 2%葡萄糖浓度下, 所有试验菌株均能够旺盛的生长, 而大部分菌株在 24 h 左右进入稳定期生长阶段。而 *Lodderomyces elongisporus* 与 *Debaryomyces hansenii* 生长较为缓慢, 在 48 h 甚至更长的时间里才进入稳定生长期。

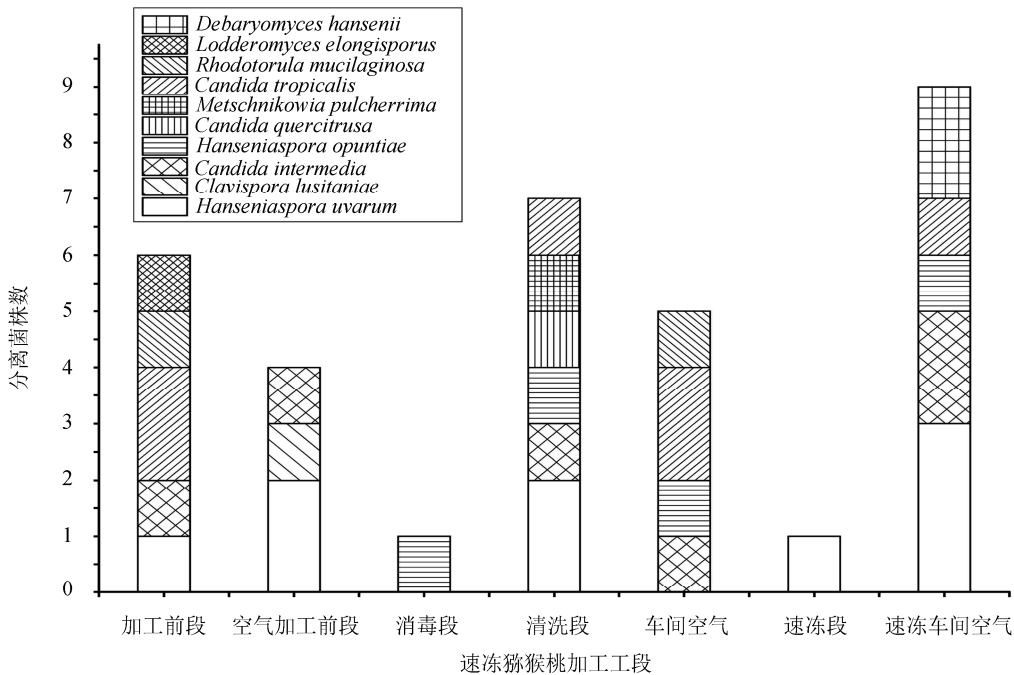


图 1 耐高渗酵母在速冻猕猴桃加工环节上的分布
Fig. 1 The distribution of osmotolerant yeasts on the processing procedures of quick-frozen kiwi fruit

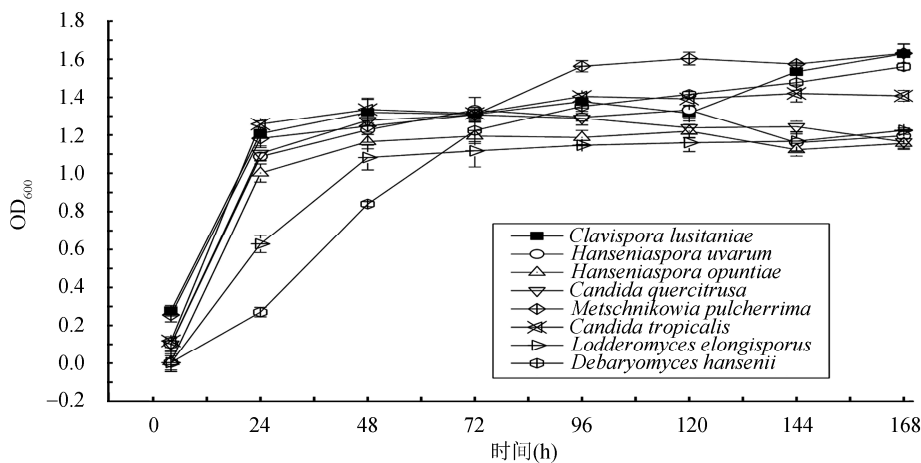


图 2 耐高渗酵母在 2%(m:m)葡萄糖浓度下生长曲线

Fig. 2 The growth curve of omsotolerant yeasts in 2% (m:V) glucose concentration

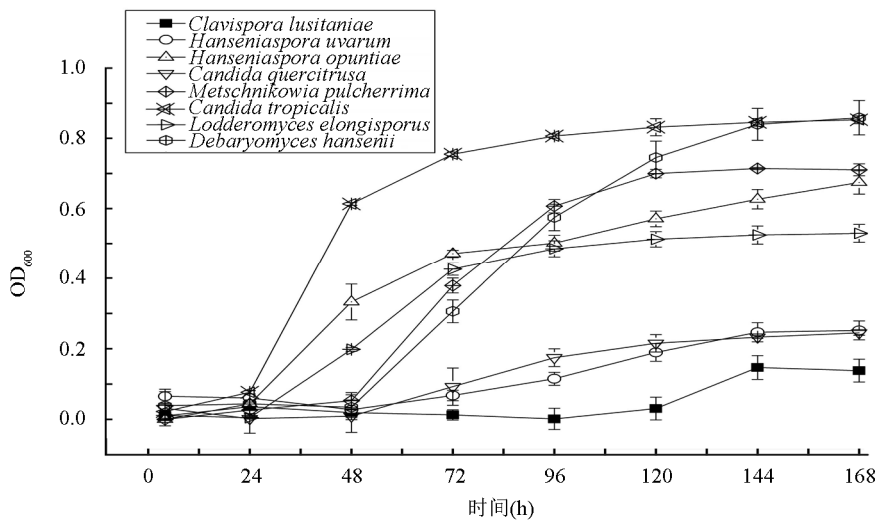


图 3 耐高渗酵母在 50%(m:V)葡萄糖浓度下生长曲线

Fig. 3 The growth curve of omsotolerant yeasts in 50% (m:V) glucose concentration

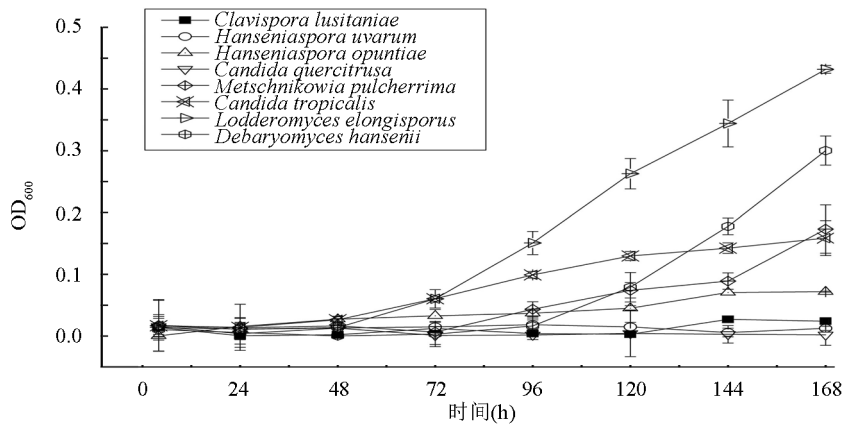


图 4 耐高渗酵母在 60%(m:V)葡萄糖浓度下生长曲线

Fig. 4 The growth curve of omsotolerant yeasts in 60% (m:V) glucose concentration

在 50%葡萄糖浓度下, *Hanseniaspora opuntiae*, *Metschnikowia pulcherrima*, *Candida tropicalis*, *Lodderomyces elongisporus*, *Debaromyces hansenii* 均生长较为旺盛。其中 *Candida tropicalis* 在 48 h 内呈现对数增长, 而并未受到高糖渗透压的明显抑制作用。而 *Debaromyces hansenii* 呈现一定的适应过程, 但是对数期的起始时间只是从 24 h 延长到 48 h, 其受到高糖浓度的影响反而比其他菌种小。与之相似的还有 *Lodderomyces elongisporus*。在试验的 168 h 内, *Clavispora lusitaniae*, *Hanseniaspora uvarum* 和 *Candida quercitrusa* 只有有限的生长, 说明这些菌株在 50%的葡萄糖浓度下生长受到了明显的抑制。

在 60%葡萄糖浓度下, *Clavispora lusitaniae*, *Hanseniaspora uvarum* 和 *Candida quercitrusa* 几乎不能生长, 因为其 OD_{600} 在 168 h 的试验时间内没有明显的变化。而 *Hanseniaspora opuntiae*, *Metschnikowia pulcherrima*, *Candida tropicalis*, *Debaromyces hansenii*, *Lodderomyces elongisporus* 均处于逐渐适应阶段, 其浑浊度不断上升。尤其是 *Lodderomyces elongisporus* 和 *Debaromyces hansenii*, 在 96 h 左右进入对数生长期, 在较高的渗透压下生长潜力更强, 表明其更适应高的渗透压环境。试验说明不同的酵母菌种对于高糖形成的渗透压有不同的响应, 总体表现是在高渗透压条件下延滞期延长, 对数期延迟到来。

3.3 产气性试验

如图 5 所示, 在 2%与 50%葡萄糖 YPD 培养基下, 不同酵母种的产气性也有显著差异。*Hanseniaspora opuntiae* 是其中产气性最强的菌株, 在 168 h 时产生

近 50 mL 的气体, 约为 2%条件下的 4 倍, 而 *Metschnikowia pulcherrima* 也产生了约 40 mL 的气体。虽然 *Lodderomyces elongisporus* 和 *Debaromyces hansenii* 对高浓度葡萄糖的耐受性很强, 但是这两种酵母却不喜产气, 可能是在高渗条件下酵母的代谢通路做出了适应性的调整。

4 结论与讨论

本研究首次鉴定了分布在速冻猕猴桃生产线上的耐高渗酵母菌株, 确定不同菌株的分布环节, 研究不同菌株的耐糖性和产气性。

在软饮料的加工中, *H. uvarum*、*D. hansenii*、*L. elongisporus* 被定义为清洁指标^[18], 即如果加工环节出现错误, 该酵母会造成污染事件的发生。但是当生产加工中采取必要的措施, 这些菌种引起的污染事件将不会发生。然而, 速冻猕猴桃片的加工生产属于“冷加工”, 没有热杀菌环节^[19], 且将猕猴桃片浸泡于次氯酸钠水的消毒环节并不能杜绝菌种的传播。研究发现, 不仅浸泡用的消毒水中有酵母, 而且后续的加工环节都存在, 尤其是加工车间的空气中漂浮着多种高渗酵母, 很可能成为产品出现污染问题的原因。而分离频次较少的高渗酵母菌株如 *D. hansenii* 和 *L. elongisporus* 具有很强的渗透压耐受性, 可能会随着速冻猕猴桃这种半加工产品进入后续高渗透压产品中(如蛋糕、果脯等), 进一步引起污染。*H. opuntiae* 和 *M. pulcherrima* 等具有很强的产气性, 一旦污染, 会导致包装猕猴桃产品的包装破裂, 影响产品的销售。

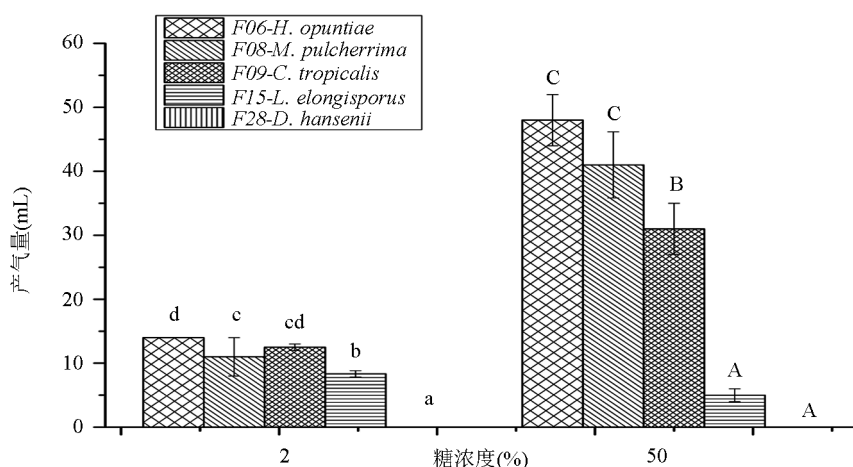


图 5 耐高渗酵母的产气性(注: A、B、C、D 和 a、b、c、d 表示菌株的产气量有显著性差异, 而标 cd 项表示差异不显著, $P < 0.05$)

Fig. 5 The gas production of osmotolerant yeasts

因此,在速冻猕猴桃加工中应加强卫生管理,增加杀菌操作,保证猕猴桃制品的微生物安全性。在污染预防方面,应重点防范 *H. uvarum*, *H. opuntiae*, *C. tropicalis*, *C. intermedia* 等多发性耐高渗酵母,因为其数量多且分布广泛;而同时也应该注意偶发性的 *M. pulcherrima*、*Lelongisporu* 及 *D. hansenii*, 虽然这些耐高渗酵母的发生频率小,但是其耐渗性强,是食品加工中的隐患,可能会造成严重的污染事件。

参考文献

- [1] Querol A, Fleet GH. Yeasts in food and beverages [M]. Berlin Heidelberg: Springer, 2006.
- [2] 刘灿灿, 岳田利, 袁亚宏. 浓缩苹果汁中高渗酵母的分离鉴定及耐糖性研究[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2014, 42(8): 111–118.
- Liu CC, Yue TL, Yuan YH. Isolation, identification and sugar tolerance analysis of an osmophilic yeast strain from concentrated apple juice [J]. J Northwest Sci-Tech Univ Agric Forestry (Nat Sci Edit), 2014, 42(8): 111–118.
- [3] 王虎玄, 岳田利, 胡仲秋, 等. 陕西浓缩苹果汁中高渗酵母的分离鉴定[J]. 农业机械学报, 2015, 46(4): 246–251.
- Wang HX, Yue TL, Hu ZQ, et al. Isolation and identification of osmotolerant yeasts in apple juice concentrate in Shaanxi [J]. Trans Chin Soc Agric Mach, 2015, 46(4): 246–251.
- [4] Dakal TC, Solieri L, Giudici P. Adaptive response and tolerance to sugar and salt stress in the food yeast *Zygosaccharomyces rouxii* [J]. Int J Food Microbiol, 2014, 185: 140–157.
- [5] Fleet GH. Spoilage yeasts [J]. Crit Rev Biotechnol, 1992, (12): 1–44.
- [6] Marvig CL, Kristiansen RM, Madsen MG, et al. Identification and characterisation of organisms associated with chocolate pralines and sugar syrups used for their production [J]. Int J Food Microbiol, 2014, 185:167–176.
- [7] Juvonen R, Virkajärvi V, Priha O, et al. Microbiological spoilage and safety risks in non-beer beverages[M]. Espoo: Vuorimiehentie, 2011.
- [8] Saksinchai S, Suzuki M, Chantawannakul P, et al. A novel ascosporogenous yeast species, *Zygosaccharomyces siamensis*, and the sugar tolerant yeasts associated with raw honey collected in Thailand [J]. Fungal Divers, 2012, 52(1): 123–39.
- [9] Senses-Ergul S, Agoston R, Belak A, et al. Characterization of some yeasts isolated from foods by traditional and molecular tests [J]. Int J Food Microbiol, 2006, 108(1): 120–4.
- [10] China Agriculture Statistical Report 2012 [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2013.
- [11] 胡貽椿, 岳田利, 袁亚宏, 等. 浓缩苹果汁生产环境中嗜酸耐热菌的分离与初步鉴定[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2007, 05: 184–1888.
- Hu YC, Yue TL, Hu ZQ, et al. Research on a Thermoacidiphilic Bacteria Isolated from the Air of AJC Production workshop [J]. J Northwest Sci-Tech Univ Agric Forestry (Nat Sci Edit), 2007, 05: 184–1888.
- [12] Tofalo R, Chaves-Lopez C, Di Fabio F, et al. Molecular identification and osmotolerant profile of wine yeasts that ferment a high sugar grape must [J]. Int J Food Microbiol, 2009, 130(3): 179–187.
- [13] Barnett JA, Payne RW, Yarrow D. Yeasts: characteristics and identification [M]. Cambridge University Press, 1983.
- [14] White TJBT, Lee S, Taylor J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. [J]. PCR Protoc: A Guide to Methods and Applications, 1990, 18: 315–322.
- [15] Kurtzman CP, Robnett CJ. Identification and phylogeny of ascomycetous yeasts from analysis of nuclear large subunit (26S) ribosomal DNA partial sequences [J]. Antonie Van Leeuwenhoek, 1998, 73(4): 331–71.
- [16] NCBI/BLAST Home. [EB/OL]. (2015-06-15). <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>.
- [17] Martorell P, Stratford M, Steels H, et al. Physiological characterization of spoilage strains of *Zygosaccharomyces bailii* and *Zygosaccharomyces rouxii* isolated from high sugar environments [J]. Int J Food Microbiol, 2007, 114(2): 234–42.
- [18] Davenport R. Forensic microbiology for soft drinks business [J]. Soft Drinks Manage Int, 1996, 31–33.
- [19] 文连奎, 冯永巍, 韩安军. 速冻果蔬加工制品质量及其控制[J]. 农产品加工学刊, 2006, (4): 19–21.
- Wen LK, Feng YW, Han AJ. Quality and control of quick freezing fruits and vegetable products [J]. Acad Period Farm Product Proc, 2006, (4): 19–21.

(责任编辑: 李振飞)

作者简介



牛 晨, 博士研究生, 主要研究方向为食品安全控制。
E-mail: lillianiuchen@163.com



岳田利, 博士, 博士生导师, 主要研究方向为食品生物技术及食品安全控制。
E-mail: yuetl@nwfufu.edu.cn